

TREBALL DE RECERCA

Transgènics, per què no?

**Panís modificat genèticament per a
combatre la SIDA**



Dirigit per Ester Ros

2n de Batxillerat, B
IES Ronda

AGRAÏMENTS

A l'Ester Ros, la meva tutora, per guiar-me en la elaboració d'aquest treball.

A la Maite Sabalza per dirigir les meves pràctiques, per la informació facilitada, la seva ajuda, el seu tracte, la seva paciència i per donar resposta als meus dubtes en tot moment.

A la Teresa Capell, en Paul Christou i a tots els membres del laboratori d'enginyeria genètica de la universitat de Lleida per haver-me considerat una més del seu equip.

Als meus pares per portar-me als llocs, llegir-se el meu treball tantes vegades com ha fet falta i pels consells donats.

ÍNDIX

INTRODUCCIÓ.....	4
OBJECTIUS.....	6
1. PART	
TEÒRICA.....	7
1.1 Orígen dels transgènics.....	7
1.2 Biotecnologia.....	8
1.2.1 Enginyeria genètica.....	9
1.3 Què són els transgènics?	10
1.4 Tècniques per a l'obtenció dels transgènics.....	11
1.4.1 Aspectes generals.....	11
1.4.1.1 Mètode basat en la utilització d'un vector viu que porti el material genètic a la cèl·lula.....	11
1.4.1.2 Mètode basat en l'ús de protoplasts	12
1.4.1.3 Biobalística.....	13
1.5 Aplicació i desenvolupament de les plantes transgèniques.....	14
1.5.1 Projectes d'investigació a la ciutat de Lleida.....	14
1.5.1.1 Resistència a insectes.....	14
1.5.1.2 Millora en la qualitat nutritiva.....	15
1.5.1.3 Tolerància a l'estrès ambiental.....	16
1.5.1.4 Fixació del nitrogen.....	16
1.5.1.5 Producció de fàrmacs i vacunes.....	17
1.5.1.5.1 Procès a seguir per la comercialització de fàrmacs (microbicides) i cost.....	17
1.5.2 D'altres investigacions (encara no es realitzen a Lleida).....	19
1.5.2.1 Resisència als herbicide.....	19
1.5.2.2 Millora de la productivitat i producció.....	19
1.5.2.3 Control de malalties virals.....	19
1.5.2.4 Producció de fruits més resistents,.....	20
1.5.2.5 Producció de plantes com a bioreactors	20
1.5.2.6 Millores amb finalitats ornamentals.....	20
1.6 Normativa sobre els transgènics.....	21
1.6.1 Legislació catalana.....	21
1.6.2 Legislació estatal.....	21
1.6.3 Legislació comunitària.....	21
1.7 Comercialització dels aliments modificats genèticament. Etiquetatge.....	22
1.8 Conclusió part teòrica.....	23

2. PART PRÀCTICA	24
2.1 Microbicides en forma de crema per a combatre els anticossos de la SIDA(Molecular Farming).....	25
2.2 Anàlisi de resultats i conclusions.....	48
3. ESTUDI DE LA VALORACIÓ SOCIAL DELS PRODUCTES OBTINGUTS A TRAVÉS DE MODIFICACIONS GENÈTIQUES	51
3.1 Buidat de les enquestes.....	51
3.1.1 Dades sobre el coneixement dels transgènics.....	51
3.1.1.1 Font d'informació.....	51
3.1.1.2 Nivell d'informació.....	52
3.1.1.3 Àmbit d'aplicació.....	53
3.1.1.4 Coneixement del procés d'obtenció	53
3.1.1.5 Considerar-se capaç d'opinar si són o no perjudicials.....	54
3.1.1.6 Coneixement de les investigacions que es duen a terme a Lleida.....	54
3.1.1.7 Coneixement del consum de transgènics.....	55
3.1.1.8 Coneixement de la identificació dels productes que contenen transgènics	55
3.1.2 Dades sobre el que es pensa dels transgènics.....	56
3.1.2.1 Ingerir transgènics o derivats pot ser perjudicial..	56
3.1.2.2 Creença sobre si s'estan duent a terme estudis per saber si els productes transgènics són perjudicials.....	56
3.1.2.3 Creença sobre l'autorització o no del cultiu de transgènics pels governs.....	57
3.1.2.4 Creença que el procés natural de la bacteria <i>agrobacterium tumefaciens</i> pot considerar-se una transformació genètica.....	57
3.2 Conclusions.....	58
BIBLIOGRAFIA	59
GLOSSARI	61
ANNEX	64

INTRODUCCIÓ

Tots en un moment o altre, directa o indirectament a través dels mitjans de comunicació, hem estat espectadors de manifestacions en contra dels productes transgènics que ens han portat a posicionar-nos a favor o en contra sense tenir-ne més informació que la defensa o l'atac de certes organitzacions.

Però, què són els productes transgènics? Com s'aconsegueix un transgènic? Cap a quins camps avança la biotecnologia? Podem trobar aliments transgènics a les nostres botigues? Existeix alguna normativa que ho regula?

La curiositat, les ganes de saber-ne més i la inimaginable oportunitat de compartir recerca amb experts del tema a la nostra ciutat m'ha dut a endinsar-me en el món de la biotecnologia, la enginyeria genètica, dels organismes modificats genèticament, ... i a participar temporalment en un projecte d'investigació

He organitzat el meu treball en tres parts ben diferenciades:

La primera o marc teòric té com a objectiu aportar els coneixements teòrics sobre el món dels transgènics i donar una breu pinzellada de les investigacions que s'estan duent a terme en aquest camp a la UDL.

La segona o part pràctica pretén descriure la meva participació en el projecte *Molecular Farming* un dels projectes de recerca de plantes transgèniques amb finalitats humanitàries que s'estan realitzant als laboratoris de la facultat de biotecnologia de Lleida, amb l'objectiu de seguir i d'experimentar alguna de les tècniques més utilitzades per a la obtenció de transgènics .

La tercera o estudi sobre la valoració social dels transgènics, té com a objectiu saber el que sap o en pensa la gent a través d'una enquesta i analitzar-ne els resultats obtinguts.

OBJECTIUS

Per a la elaboració del present treball m'he plantejat els següents objectius:

- Saber en que consisteix la biotecnologia i què són els organismes modificats genèticament OMG.
- Conèixer les tècniques d'obtenció de plantes transgèniques.
- Seguir algun dels processos d'obtenció de plantes transgèniques.
- Experimentar en un laboratori amb plantes modificades genèticament.
- Fer el seguiment d'una planta modificada genèticament i comprovar si s'expandeix o no en ella el gen introduït.
- Recollir dades, a través d'enquestes, per saber quin és el grau de coneixement de la població referent als transgènics.
- Conèixer quina és la normativa actual referent al conreu i comercialització de plantes transgèniques.
- Fer un recull de notícies publicades en diferents mitjans de comunicació que exemplifiquin el que pensa la gent sobre els transgènics.

1 PART TEÒRICA

1.1 Origen dels transgènics

La història de la biotecnologia*¹ va iniciar-se fa aproximadament 15.000 anys.

Des del primer moment en que va aparèixer l'agricultura, l'home s'ha preocupat d'anar seleccionant aquelles espècies que li proporcionaven millors rendiments. Els primers agricultors ja es guardaven una part de les millors collites com a llavors per a la sembra de l'any següent i rebutjaven aquelles que tenien escassos rendiments, assegurant-se d'aquesta manera, la supervivència de les millors plantes.

En civilitzacions tan antigues com la Mesopotàmica i l'egípcia ja s'utilitzaven microorganismes per a la producció d'aliments. En podem trobar referències en receptes de cuina en les quals els llevats tenien un paper important en la producció del pa i la cervesa. Els grecs afegien - i continuen fent-ho – bacteris a la llet per a elaborar el iogurt.

Fa un centenar d'anys, amb el descobriment de les lleis de l'Herència per Mendel i l'avenç de la biologia vegetal, la millora de les plantes de cultiu va deixar de dependre de la casualitat per passar a dependre de la ciència.

Les varietats de les plantes es seleccionen per cicles de pol·linització creuada (hibridació) i selecció. Degut a aquesta selecció s'han anat creant noves varietats més selectes que han acabat desplaçant i substituint a les antigues.

¹ Les paraules marcades amb un * les trobareu al glossari.

El creuament entre individus d'una mateixa espècie o espècies properes fins a obtenir-ne d'híbrids portadors de les característiques desitjades han estat pràctiques habituals en el món de l'agricultura, limitades però per la incompatibilitat sexual de les espècies progenitores.

No obstant això, l'era de l'enginyeria genètica moderna s'inicia als anys setanta amb el descobriment dels enzims bacterians anomenats *endonucleases*, la missió dels quals és tallar l'ADN en un lloc molt específic. Aquest descobriment va donar als científics una eina capaç de partir i modificar qualsevol tipus d'ADN. Això va suposar el naixement de la tecnologia de l'ADN recombinant, que possibilitava tallar i enganxar trossos d'ADN a través de noves combinacions provinents del mateix organisme o d'organismes diferents.

1.2 Biotecnologia

La biotecnologia esta definida per l'OCDE (Organització per la Cooperació i el Desenvolupament a Europa) des de 1982 com l'aplicació d'organismes, sistemes i processos biològics a la producció de béns o serveis en benefici de d'home. Però cal destacar que la biotecnologia no és per sí mateixa una ciència, és un enfocament multidisciplinari que involucra l'aplicació de coneixements de varies disciplines i ciències: biologia, química, bioquímica, genètica, virologia, agronomia, enginyeria química, medicina, veterinària, tecnologies de la informació i la robòtica.

La "biotecnologia moderna" inclou una àmplia varietat de tècniques de la investigació en biologia cel·lular i molecular. Aquestes tècniques poden ser utilitzades en qualsevol indústria que utilitzi microorganismes o cèl·lules vegetals i animals. Per tant, s'aplica a un gran nombre de sectors de producció tant variats com la Salut Animal i Humana, l'Agricultura i l'Alimentació, Subministraments Industrials, Energia i Medi Ambient.

Podríem definir la “biotecnologia moderna” com l’aplicació comercial d’organismes vius o productes, dels quals les seves molècules d’ADN han sofert una manipulació deliberada. L’eina de la biotecnologia és l’enginyeria genètica.

1.2.1 Enginyeria genètica

L’enginyeria genètica*, com a rama de la biotecnologia, permet l’accés i la manipulació directa dels gens, és a dir, permet la modificació del genoma d’un individu. Aquesta tecnologia ens permet a més d’introduir en una planta gens procedents d’altres espècies vegetals, la introducció de gens procedents d’animals i microorganismes. D’aquesta manera s’obtenen plantes transgèniques, o sigui, portadores d’un gen* alien o exogen que s’anomena *transgen*. D’aquí sorgeix el terme de *transgènic* o *organisme modificat genèticament* (OMG) que, en definitiva, és un ésser viu al que se li ha incorporat un o més gens d’altres espècies amb la finalitat de dotar-lo de noves característiques.

La doctora Capell² introdueix un matís important en la definició de l’enginyeria genètica.

*... és una tècnica de la biotecnologia que s'utilitza per modificar gens, eliminar-los o introduir-los al genoma d'un organisme amb la finalitat d'obtenir productes **beneficiosos** per als éssers vius.*

De l’anterior definició es desprèn l’idea que l’enginyeria genètica té finalitats beneficioses per la humanitat en contra del que la majoria de la gent creu.

² T. Capell i d’altres *Canviar els gens per millorar el món* Pagès editors Lleida 2011

Podem trobar OMG amb més freqüència en les plantes, si bé en el nostre país n'està permès el cultiu, no n'està permès el seu consum a diferència d'altres països.

El conreu de plantes transgèniques respon a diferents motius entre els quals destacaré:

a. *Econòmics:*

- Increment de la productivitat degut a que les noves plantes són més resistents a les plagues, malalties, herbicides, sequeres, l'elevada salinitat del sol, ...
- Endarreriment de la maduració dels fruits per aconseguir ampliar el temps d'emmagatzematge.

b. *Ambientals:*

- Regeneració de sols contaminats per metalls pesats amb plantes tolerants a les elevades concentracions d'aquests metalls.

c. *Humanitaris:*

- Incorporació de vitamines i nutrients en determinats aliments per combatre la desnutrició al tercer món.
- Incorporació d'anticossos per a combatre malalties com pot ser la SIDA

1.3 Que són els transgènics?

Els transgènics són organismes als que se'ls ha introduït un o més gens provinents de la mateixa o d'una altra espècie, produint-se un canvi en la seva estructura genètica.

Si en el procés de transformació d'un animal o una planta, el gen que s'introdueix queda integrat al genoma, rebrà el nom de *transgènic* però si se'n transforma un llevat o un bacteri i el gen forà es queda a l'organisme sense enganxar-se al seu genoma s'anomenarà *recombinant*.

Per a modificar genèticament un organisme cal seguir tot un procés, la ciència que estudia aquest procés és la biotecnologia i la que s'encarrega de realitzar-lo és l'enginyeria genètica.

1.4 Tècniques per a l'obtenció dels transgènics

1.4.1 Aspectes generals

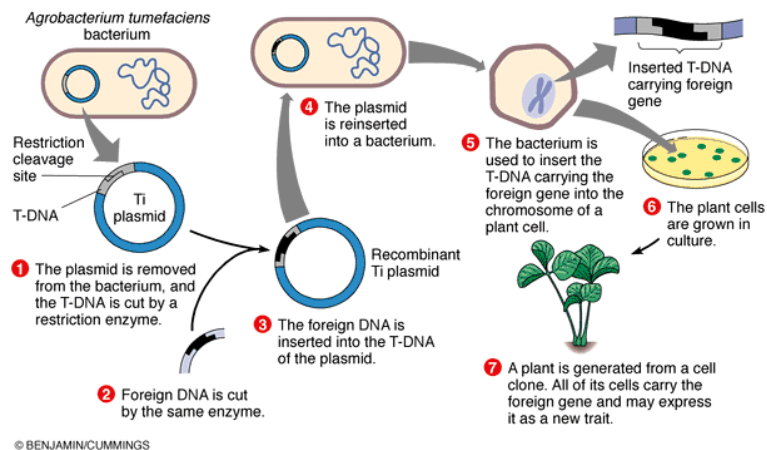
Per a la introducció de gens aliens a una planta, principalment s'utilitzen 3 tècniques. Aquestes tècniques van tenir els primers èxits en la dècada dels vuitanta però no va ser fins als anys noranta quan es van començar a comercialitzar plantes transgèniques obtingudes per aquests sistemes .

1.4.1.1 Mètode basat en la utilització d'un vector viu que porti el material genètic a la cèl·lula

- Emprant **virus** genèticament modificats, que ja porten els gens que ens interessen en lloc dels gens estructurals, els quals insereixen el seu genoma en l'ADN cel·lular per a copiar-se i d'aquesta manera aconseguir l'expressió dels gens forans.
- Emprant el mecanisme natural d'infecció del bacteri del sòl *Agrobacterium tumefaciens* que introdueix un gen del seu plasmidi en les cèl·lules de la planta infectada. Aquest gen s'integra al genoma de la planta provocant-li un tumor o agalla. Amb l'*A. Tumefaciens* es crea

una cepa recombinant amb els gens d'interès i s'indueix la formació de tumors, on s'hi trobaran cèl·lules modificades degut a la interacció, s'aïllen aquestes cèl·lules i a partir d'elles es genera l'individu transgènic.

Aquesta tècnica es va aplicar amb èxit per primera vegada l'any 1984 amb el tabac i el gira-sol. Les gramínies i en general totes les monocotiledònies ofereixen molta resistència a l'*Agrobacterium tumefaciens*, per aquest motiu aquest mètode és inviable per a un extens nombre de plantes

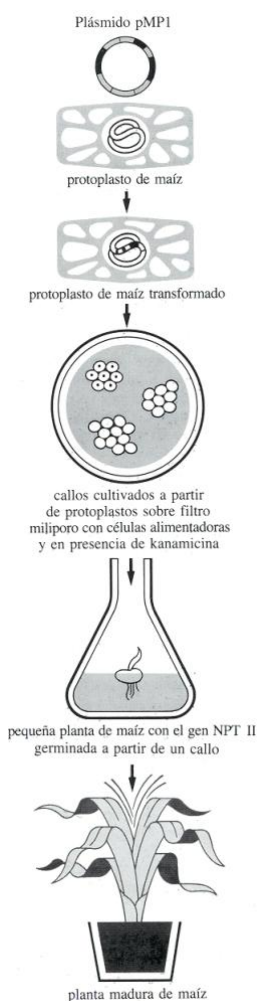


1.4.1.2 Mètode basat en l'ús de protoplasts:

Els protoplasts* són cèl·lules vegetals alliberades de la paret cel·lular. D'aquesta manera queda eliminada la barrera principal per a la introducció de gens forans.

Es pot realitzar una transferència directa de gens mitjançant la fusió de protoplasts amb químics com el PEG (polietilenglicol), d'on s'obtenen híbrids nuclears i després cèl·lules transgèniques per recombinació. També es pot utilitzar aquesta tècnica amb l'ús de liposomes.

Amb la utilització d'aquesta tècnica l'any 1988 es van aconseguir els primers cereals transgènics.

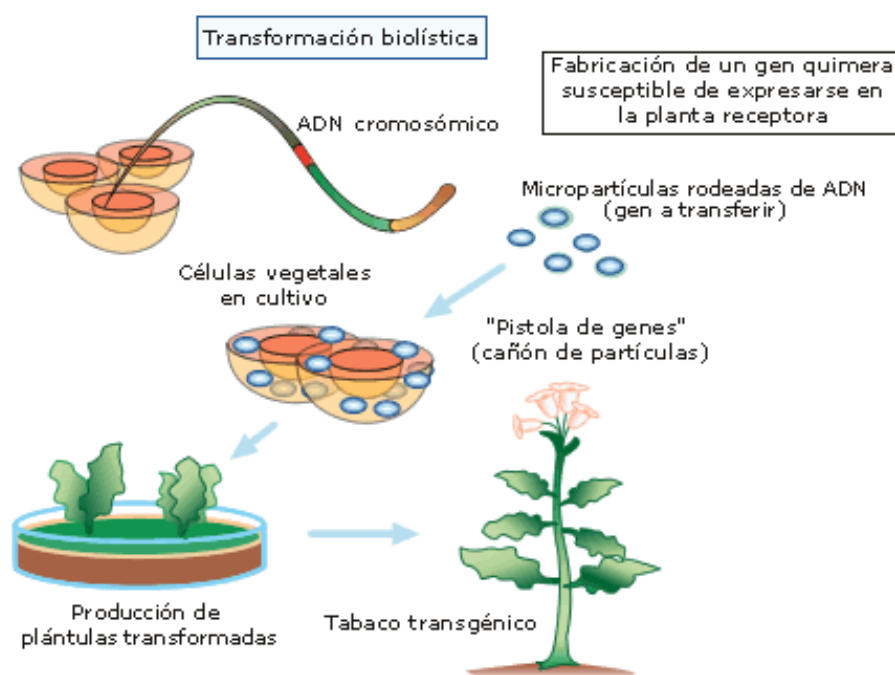


1.4.1.3 Biobalística

Aquest mètode consisteix en bombardejar les cèl·lules amb partícules metàl·liques microscòpiques recobertes pel DNA que es vol introduir. Les partícules es projecten sobre el teixit vegetal per l'impuls d'una ràfega d'aire comprimit. Un cop dins del teixit vegetal el DNA es desenganxa de les micropartícules degut a les modificacions de l'entorn iònic

Aquesta tècnica ha donat molt bons resultats i ha estat la que

hem aplicat en les tasques de col·laboració que he fet amb investigadors de la facultat de biotecnologia de Lleida.



1.5 Aplicació i desenvolupament de les plantes transgèniques

Els científics dedicats a la investigació i desenvolupament de les plantes transgèniques, tenint en compte que la superfície del sòl agrícola disminueix un 0,1% anual i que pel contrari la població anual augmenta a un ritme d'un 2% creuen que cal incrementar la producció agrícola d'aliments alhora que millorar-los i dotar-los de propietats encaminades a millorar la qualitat de vida. En aquest sentit s'estan desenvolupant un seguit d'investigacions en aquest camp.

1.5.1 Projectes d'investigació a la ciutat de Lleida

1.5.1.1 Resistència a insectes

La introducció de gens Bt* en les plantes fa que aquestes siguin de manera natural resistents a les principals plagues que ataquen als cultius i

produeixen grans pèrdues de producció. L'avantatge de les proteïnes tòxiques Bt (provinents dels gens cry*) és que ataquen solament a certs grups sensibles a aquestes proteïnes i no afecten a la resta de la fauna de l'entorn relacionada amb les plantes de cultiu.

Permeten la disminució de l'ús de plaguicides químics ja que la planta per si mateixa és capaç d'enverinar els insectes, l'ús d'agrotòxics es fa innecessari, reduint d'aquesta manera l'impacte sobre les plantes, la fauna de l'entorn i el sòl, i reduint el cost de producció pel que fa als plaguicides.

Els plaguicides químics actuen sobre un ampli ventall d'espècies agressores, per tant són un risc per la fauna i la flora silvestre, essent també tòxics per al cos humà.

Actualment s'utilitza al voltant de 10 milions de tones d'insecticides en tot el món, no obstant es perd el 35% de les collites mundials per culpa dels insectes.

1.5.1.2 Millora de la qualitat nutritiva

Algunes plantes són riques en certs nutrients essencials per l'home, mentre que d'altres no en tenen cap o els tenen en molt baixes quantitats, és per aquest motiu que els mètodes d'enginyeria genètica ha aconseguit augmentar la producció de certes substàncies en plantes transgèniques. Un dels exemples més representatiu és el de l'arròs daurat (Golden rice, pel seu color) que és ric en vitamina A, vitamina que ajuda a evitar la ceguera de mig miler de nens per any al món.

L'expressió de certs nutrients que no estaven presents abans en determinats cultius és una bona opció per combatre la desnutrició en poblacions amb accés restringit a molts aliments, que per aquest motiu tenen una dieta incompleta i deficient. Els principals camps d'acció d'aquest projecte és l'augment d'àcids grassos, de proteïnes i nutrients.

1.5.1.3 Tolerància a l'estrès ambiental

Un factor negatiu sobre les plantes són les condicions ambientals adverses que provoquen fortes situacions d'estrès sobre les plantes disminuint la seva productivitat o matant-les. Per aquest motiu s'han aïllat gens d'organismes resistents a determinades condicions ambientals extremes, com poden ser les altes o baixes temperatures, condicions de salinitat extrema o el pH baix 5 o sobre 9. Aquests gens de resistència a factors extrems normalment s'han agafat d'arqueobacteris, que són els organismes millor adaptats a aquestes circumstàncies, tot i que en ocasions també s'han agafat gens d'animals i plantes amb la mateixa finalitat.

Un dels avenços més atractius en aquest sentit és la producció de plantes de tabac i naps portadores d'un gen humà que els proporciona la resistència a certs metalls pesats, per mitjà d'una proteïna d'assimilació d'aquests metalls, transformant-los en formes menys tòxiques dins de l'organisme.

La principal avantatge que té la reducció de l'estrès ambiental, és la potencialitat d'ús d'hàbitats marginals per a cultius. Plantes transgèniques que poden créixer en ambients poc o gens aptes per a les seves parentes silvestres.

1.5.1.4 Fixació del nitrogen

S'han creat plantes transgèniques amb un ampli espectre d'assimilació de *Rhizobium sp*, una bactèria fixadora de nitrogen. Aquestes bacteries normalment només fan simbiosi amb les lleguminoses, però amb les noves tendències amb biotecnologia vegetal s'ha aconseguit ampliar els espectres a d'altres tipus de plantes.

1.5.1.5 Producció de fàrmacs i vacunes

L'expressió de proteïnes terapèutiques i de vacunes de subunitat han estat un gran avenç de les plantes transgèniques en el camp de la medicina. Normalment les vacunes i molts fàrmacs són difícils de produir i els costos als consumidors són tant elevats que es fan inaccessibles a la majoria de la gent. Per aquest motiu la producció de vacunes actives i anticossos funcionals en plantes representa una bona alternativa per difondre l'ús de vacunes importants, com a la de l'hepatitis B, a un cost molt inferior o microbicides per combatre el virus de la SIDA.

En aquest camp l'any 1998 es va aconseguir expressar resposta immune efectiva en ratolins mitjançant plantes transgèniques que expressen la proteïna VP1 de la malaltia coneguda com a febre aftosa. **Aquests resultats són encoratjadors per pensar que en un futur proper, la immunització contra les principals malalties es realitzarà mitjançant els aliments.**

1.5.1.5.1 Procés a seguir per la comercialització de fàrmacs (microbicides) i cost.

Els Microbicides són formulacions de baix cost que contenen diferents compostos i prevenen la infecció del virus del sida. Estan dissenyats per ser aplicats a la vagina o en el recte. N'hi ha de diferents tipus. En aquest cas, aquest microbicida en concret crearia una barrera entre el virus i les cèl·lules de la vagina o el recte per bloquejar la infecció.

Una altra possibilitat per aquest microbicida seria mantenir el medi àcid de la vagina. La vagina té un medi àcid, l'entrar amb contacte amb els espermatozous durant una relació sexual, aquest medi es torna bàsic. El que farien els microbicides en aquest cas fora mantenir el medi àcid per tal d'eliminar qualsevol tipus de bacteris i microbis. No hi ha cap microbicida comercialitzat però hi ha molts assajos clínics que estan sent estudiats per molts laboratoris.

Aquest microbicida ha estat provat en diferents animals, especialment en primats, a la vagina, al recte, a la pell i a la boca.

Per comercialitzar un microbicida primer ha de passar per un assaig clínic que consta de 4 fases, tot i que la última fase es realitza un cop el microbicida és comercialitzat:

- Fase 1: en aquesta fase es prova el microbicida en un nombre reduït d'humans (menys de 100) i es mira que faci efecte. Normalment aquests assajos clínics es fan a Àfrica o en països poc desenvolupats ja que és on es troba un major nombre de persones infectades.
- Fase 2: si la fase 1 ha estat satisfactòria es passa a la fase 2. Necessitarem un grup de pacients que tinguin la malaltia (de 100 a 200). Aquest grup el dividirem en dos i compararem els resultats entre sí. El grup 1 (grup control) utilitzarà els millors medicaments disponibles pel tractament de la malaltia implicada i el grup 2 utilitzaria els fàrmacs en estudi.
- Fase 3: si la fase 1 i la 2 tenen èxit es passa a la 3. Aquí es comprova l'eficàcia del microbicida amb un nombre major de pacients (centenars o milers), buscant també manifestacions de toxicitat no detectades anteriorment. D'aquesta manera s'obté una millor perspectiva de l'eficàcia i el comportament del microbicida.
- Fase 4: un cop comercialitzat el producte continua la investigació durant un temps per veure si té algun efecte secundari no previst i si hi ha altres reaccions no detectades anteriorment.

El seguiment de tots aquests passos duraria al voltant d'uns 10 anys però al tractar-se d'un producte transgènic, amb totes les polèmiques que hi ha, seria d'uns 20 anys o més.

El cost de producció seria elevadíssim però el cost de venda no seria gens car ja que al ser d'ús tòpic té un preu assequible per a tothom

(valdria com tots els altres si fa o no fa). En canvi, als països poc desenvolupats se'ls donaria gratis.

1.5.2 D'altres investigacions (encara no es realitzen a Lleida)

1.5.2.1 Resistència als herbicides

La construcció de plantes resistents a l'efecte dels insecticides , fa possible eliminar amb facilitat les males herbes que creixen a les terres de cultiu.

1.5.2.2 Millora de la productivitat i producció

Un dels punts més importants en la construcció de transgènics és l'augment de la productivitat i de la producció, és dir, augmentar la qualitat i la quantitat d'un producte. Un dels desafiaments més grans de l'actualitat consisteix en donar menjar a la població mundial, d'uns 8 mil milions d'habitants aproximadament, amb la mateixa quantitat de terres productives. Per aconseguir aquest objectiu cal aconseguir varietats molt més productives que les actuals.

1.5.2.3 Control de malalties virals

Les malalties virals són motiu de pèrdues massives de cultius cada any. Els grups de virus que infecten les principals plantes són variats, els més coneguts són els virus mosaics. El virus produeixen malalties mortals en les plantes i són capaços d'acabar amb cultius sencers ja que el contagi a través de insectes o altres vectors, propaga ràpidament les malalties i produeix un deteriorament permanent en els cultius. S'han dissenyat plantes transgèniques resistents a diferents malalties virals mitjançant enginyeria genètica.

El principi de la resistència a malalties virals és la expressió de proteïnes del mateix virus, que competeixin amb les partícules virals infeccioses i tallin els processos d'entrada a les cèl·lules i de replicació. També s'han dissenyat plantes transgèniques que expressen proteïnes capaces d'interferir amb els circuits de regulació genètica dels virus, inhibint la replicació del genoma viral i la síntesi de proteïnes virals imprescindibles, mitjançant RNA antisentit*.

En aquest camp també s'han realitzat avenços quant a la resistència a malalties bacterianes i virals, a través de plantes productores de determinades proteïnes i substàncies que funcionen com antibiòtics i antimicòtics.

1.5.2.4 Producció de fruits més resistents

El primer transgènic que va sortir al mercat van ser els tomàquets "Flavr-Savr" de Calgene, que posseeixen un gen artificial que genera un RNA d'antisentit que inhibeix la producció de la proteïna responsable de la senescència del fruit. Aquesta tecnologia permet emmagatzemar i tenir més temps d'exposició a l'ambient de molts fruits sense que madurin i es malmetin.

1.5.2.5 Producció de plantes com a bioreactors

La possibilitat d'inserir gens en plantes, és tan amplia que permet que, en l'actualitat, es generin noves plantes que funcionen com a bioreactors per a descontaminació i reciclatge de productes.

1.5.2.6 Millores amb finalitats ornamentals

Algunes plantes d'importància ornamental han estat modificades genèticament per millorar les seves característiques estètiques, principalment el color de les flors, i fer-les més atractives al consumidor, mitjançant la manipulació de pigments s'han aconseguit colors de flors inexistents a la natura.

1.6 Normativa sobre els transgènics

1.6.1 Legislació catalana

- Llei 22/2010, del 20 de juliol, del Codi de consum de Catalunya.
- Llei 20/2002, de 5 de juliol, de seguretat alimentària.

1.6.2 Legislació estatal

- Reial Decret 178/2004, 30 de gener, pel qual s'aprova el Reglament general per al desenvolupament i execució de la Llei 9/2003, de 25 d'abril, que estableix el règim jurídic de la utilització confinada, alliberament voluntari i comercialització d'organismes modificats genèticament. (Text consolidat)
- Llei 9/2003, de 25 d'abril, que estableix el règim jurídic de la utilització confinada, alliberament voluntari i comercialització d'organismes modificats genèticament.

1.6.3 Legislació comunitària

- Reglament CE/298/2008, del Parlament Europeu i del Consell, d'11 de març, pel qual es modifica el Reglament CE/1829/2003, sobre aliments i pinsos modificats genèticament, en tot allò que es refereix a les competències d'execució atribuïdes a la Comissió
- Reglament CE/1829/2003, del Parlament Europeu i del Consell, de 22 de setembre, sobre aliments i pinsos modificats genèticament (Text consolidat)
- Reglament 1830/2003, del Parlament Europeu i del Consell, de 22 de setembre de 2003, relatiu a la traçabilitat i l'etiquetatge d'organismes modificats genèticament i a la traçabilitat dels pinsos produïts a partir d'aquests, i pel que es modifica la Directiva 2001/18/CE. (Text consolidat)

1.7 Comercialització dels aliments modificats genèticament. Etiquetatge

A partir del 18 d'Abril de 2004 es va aplicar una normativa segons la qual tots els aliments procedents d'organismes modificats genèticament que continguessin un 0,9% o més de transgènics o de derivats, havien d'estar etiquetats.

Aquesta normativa té com a objectiu mantenir-nos informats del tipus de producte que comprem i que, lliurement, puguem escollir aquell que més ens interessi.

Per la comercialització d'un producte transgènic cal que l'etiqueta ens indiqui clarament el que conté de la següent manera:

“Aquest producte conté organismes modificats genèticament” o bé “aquest producte conté (nom de l'organisme –p. ex. soja) modificada genèticament “.

Hi ha moltes marques al mercat, de consum habitual, susceptibles de contenir transgènics o derivats seus i que ho desconeixem. Entre elles: Artiach, Bimbo, Calvé, Central Lechera Asturiana, Cuetara, Danone, El Caserio, Flora, Fontaneda, Gallina Blanca, Guillón, Knorr, La bella Easo, la Cocinera, La Piara, Lu, Maggi, Maizena, Martínez, Nestlé, Nocilla, Oreo, Orlando, Panrico, Pascual, Pescanova, President, Prima , Tulipán entre d'altres.

1.8 Conclusió part teòrica

- El microbicida estudiat un cop elaborat i posat a la venda és un fàrmac barat d'ús tòpic.
- El temps que tardaria en comercialitzar-se, al tractar-se d'un producte transgènic seria el doble del normal. Entre 10 i 20 anys .
- Els estudis es fan sobretot en el món vegetal.

2. PART PRÀCTICA.

MOLECULAR PHARMING

El molecular farming és una de les aplicacions de la biotecnologia i es basa en la producció de proteïnes per a usos medicinals, en la meua pràctica en concret, es pretén elaborar un microbicida que contingui un tipus de proteïnes especials: els anticossos contra el virus de la SIDA.

Fins ara les proteïnes d'ús farmacèutic, com els anticossos o els enzims, es produïen en cultius de cèl·lules d'ovari de hàmsster xines (**CHO**) però el cost econòmic d'aquest sistema és molt elevat.

Les plantes permeten produir aquestes proteïnes de forma més barata i segura, a més ofereixen molts més avantatges respecte als sistemes de producció basats en cèl·lules de mamífers. Les plantes són més segures perquè a diferència dels cultius de les cèl·lules **CHO** és impossible que contaminin els medicaments amb patògens humans o animals i tenen la capacitat de produir proteïnes complexes i funcionals per als humans. No són cares de conrear ni de mantenir. Les proteïnes es poden extreure i purificar fàcilment dels teixits vegetals seguint procediments estàndards.

Actualment existeixen quatre anticossos monoclonals efectius contra el virus de la sida: 2G12, b12, 4E10, 2F5. Aquests anticossos neutralitzats s'uneixen al virus i el frenen per tal d'evitar que infecti noves cèl·lules CD4 del sistema immunitari.

2.1 Microbicida en forma de crema que continguin els anticossos per a combatre el virus de la SIDA (Molecular farming)

Objectiu: Conèixer com té lloc la producció d'una planta transgènica (panís) que conté el gen per produir anticossos* contra el sida i unes proteïnes que tenen activitat d'unir-se al virus i bloquejar-lo evitant que entri en les cèl·lules humanes.

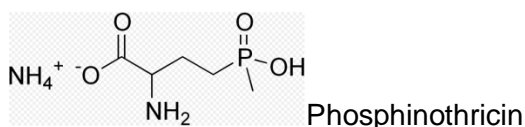
Mètode:

- 1- Clonació: Consisteix en preparar el plasmidi* que conté el gen per a que es pugui introduir en la planta. Es pretén introduir el gen d'interès en el plasmidi i que també contingui un promotor per a que la proteïna s'expressi només en la llavor de la planta.

Prèviament es bombardejaran 3 gens als plasmidis:

- pHOR-HC 2F5. Promotor: Barley Hordein. HC: cadena pesada de l'anticòs 2F5.
- pHOR-LH 2F5. LC: cadena lleugera de l'anticòs.
- pTRAux-Bar: gen del marcador de selecció PPT.

La proteïna fa que la planta sigui resistent a un herbicida anomenat PPT (Phosphinothricin).



Utilitzem el gen marcador (bar gene o gen d'interès) PPT per seleccionar, durant el cultiu in vitro, els teixits (embrions immadurs anomenats cal·lus) que han estat transformats, és a

dir, que contenen els tres gens. (Si contenen un gen, els tindran tots).

Obtenció de molts plasmidis amb els gens d'interès per al bombardeig:

Per fer còpies del plasmidi amb els gens s'utilitza la MAXIPREP que és una tècnica per aïllar DNA plasmídic o plasmidis de bacteris en grans quantitats (MAXI) i que se'ls ha ingerit els gens obtinguts en la Clonació. D'aquesta manera es pot obtenir moltes còpies dels plasmidis que contenen l'anticòs 2F5 (plasmidi 2F5 HC i plasmidi 2F5 LC).

El dia anterior a la MAXI transformem els bacteris individualment amb cada plasmidi i les deixem créixer tota la nit en 200ml de medi de cultiu per que al dia següent s'hagin multiplicat molt i puguem extreure molts plasmidis d'ells. Necessitem una gran quantitat de plasmidis per bombardejar-los després a l'embrió de panís.

Purificació del DNA plasmídic

1. Purificació del plasmidi amb NucleoBond®

1.1 – Procediment general

- Preparar un cultiu d'una nit
- Establir un cultiu de bacteris durant la nit mitjançant la inoculació del volum apropiat de medi LB (més antibiòtic) amb una sola colònia triada d'una placa fresca de ratllat. Deixar que el cultiu es vagi movent durant unes 12 o 16 hores (en una màquina especialitzada) amb la selecció d'antibiòtics afegits al medi.
- Centrifugar el cultiu a 6,000 x g durant 15 minuts a 4°C. Cuidadosament descartar el sobrenedant.

1.2– Còpia d'alta producció de plasmidis. (Mini, Midi, Maxi)

Els quadres de colors que veurem a continuació corresponen a la quantitat en ml que haurem d'afegir fent referència a la Mini, Midi i Maxi.

Mini	Midi	Maxi
(AX 20)	(AX 100)	(AX 500)

1) **Cultivar i collir les cèl·lules bacterianes**

Collita de la bactèria des d'un cultiu LB amb la centrifugació a 4,000-6,000 x g durant 15 minuts a 4°C.

2) **Lisi cel·lular**

Cuidadosament re suspendre el precipitat de les cèl·lules bacterianes amb Buffer* S1 + RNasa A.

0,4 ml	4 ml	12 ml
--------	------	-------

Afegir Buffer S2 a la suspensió. Barrejar suaument invertint els tubs 6 o 8 vegades. Incubar la mescla a temperatura ambient (20-25°C) durant 2 o 3 minuts (màxim 5 minuts). No passar pel vortex*, ja que això ens permetrà saber si hi ha contaminació cromosòmica de DNA de cèl·lules residuals dins la suspensió.

0,4 ml	4 ml	12 ml
--------	------	-------

Afegir Buffer S3 pre refredat (4°C) a la suspensió. Inmediatament barrejar suaument el lisat invertint el flascó 6 o 8 vegades fins que s'hagi format

una suspensió homogènia que conté un flocular blanquinós. Incubar la suspensió amb gel durant 5 minuts.

0,4 ml

4 ml

12 ml

3) Equilibri de la columna

Equilibrar una columna de NucleoBond AX 20 (Mini), AX 100 (Midi) o AX 500 (Maxi) amb Buffer N2. Permet que la columna buidi el flux de gravetat i descarta'l.

1,0 ml

2,5 ml

6,0 ml

4) Aclariment del lisat

Netejar el lisat bacterià després de seguir les instruccions de l'opció 1 (Midi, Maxi) o l'opció 2 (Mini, Midi, Maxi) descrites a continuació. Aquest pas és extremadament important; l'excés de precipitat a la suspensió pot obstruir la columna de NucleoBond® en els passos posteriors.

Opció1. Filtrar la suspensió. Col·locar un filtre plegat NucleoBond® en un petit artiller de suport i remullar el filtre amb unes gotes de Buffer N2 o aigua estèril desionitzada. Carga el lisat bacterià en el filtre humit i recull el flux. Nota: no fer servir filtres NucleoBond® amb columnes AX 20 (Mini preps).

Opció 2. Centrifugar la suspensió. Centrifugar a $>12,000$ x g al mínim temps indicat abans a 4°C . Si la suspensió conté precipitat residual després de la primera centrifugació, repetir aquest pas o procedir a l'opció 1.

15 min.

25 min.

40 min.

5) Enquadernació

Carregar el lisat aclarit des del pas 4 fins a la columna de NucleoBond®. Permet que la columna buidi el flux de gravetat. Opcional: És possible que vulguis guardar tot o part del flux per analitzar-lo.

6) Rentat

Renta la columna amb Buffer N3. Descarta el flux.

2 x 1,15 ml

10 ml

32 ml

7) Elució

Eluir el DNA plasmídic amb Buffer N5

Es recomana precipitar l'eluit com més aviat possible (pas 8). Però l'eluit es pot emmagatzemar amb flascons tancats en gel per unes hores. En aquest cas l'eluit hauria d'estar pre escalfat a temperatura ambient abans de la precipitació del DNA plasmídic.

1 ml

5 ml

15 ml

Opcional: Determinar el rendiment del plasmídic per espectrometria UV per tal d'ajustar la concentració de DNA desitjada (pas 10).

8) Precipitació

Afegir isopropanol a temperatura ambient per precipitar el DNA plasmídic eluït. Barrejar cuidadosament i centrifugar a $\geq 15,000 \times g$ durant 30 minuts a 4°C . Descarta el sobrenedant.

0,75 ml

3,5 ml

11,0 ml

9) Rentar i eixugar el DNA residual (pellet)

Afegeix al residu (pellet) 70% d'etanol a temperatura ambient. Passar pel vortex breument i centrifuga a $\geq 15,000 \times g$ durant 10 minuts a temperatura ambient ($20\text{-}25^{\circ}\text{C}$).

500 μl

2 ml

5 m

Remoure amb cura l'etanol del tub amb una pipeta. Deixar que el residu s'assequi a temperatura ambient ($20\text{-}25^{\circ}\text{C}$) no menys de l'hora indicada. L'excés temps no afectarà la qualitat del DNA plasmídic però pot fer que el DNA sigui menys soluble.

5-10 min.

5-10min.

10-20 min

10)Reconstrucció del DNA

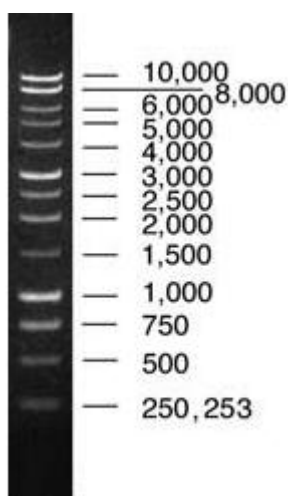
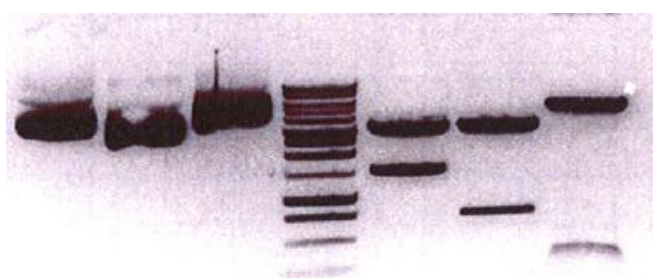
Dissoldre el precipitat anomenat pellet en un volum apropiat de Buffer TE o amb aigua estèril desionitzada (aigua auto clavada). Depenent del tipus de tub de la centrifugadora, dissoldre sota una rotació constant en una suficient quantitat de Buffer durant 10-60 minuts.

Determinar el **rendiment plasmídic** amb espectrometria UV. **Confirmar la integració del plasmidi amb l'electroforesi de gel d'agarosa.**

Una vegada feta la MAXI s'ha de comprovar que la **qualitat del DNA plasmídic es bona**, que hi ha el **plasmidi que es vol aconseguir i que la tècnica ha funcionat**. Ho comprovem amb **gel d'agarosa i la digestió amb enzims de restricció**.

1.- Fem córrer un gel d'agarosa (electroforesis) amb tan sols 1 µl del DNA dissolt en aigua, que hem obtingut de la MAXI.

07-14 15hr 19min MAXIPREP 4E10 AND GRFT v2 (Raw 1-D Im



El conjunt de bandes que hi ha entre la mostra 3 i l'aigua és l'escala d' 1kb (quilo bases). Aquesta escala és ideal per a determinar la mida de la doble hèlix de l'ADN des de 250 fins 10.000 parells de bases. L'escala es compon de 13 cadenes dobles, de fragments amb mides de 250/253, 500, 750, 1,000, 1,500, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 6,000, 8,000 i 10,000 parells de bases.

Com que teòricament sabem la mida (parells de bases) del plasmidi del que hem fet còpies, amb el gel d'agarosa comprovem que les dades ens donin iguals.

Part esquerra (MAXIprep no digerida) – plasmidi sencer.

- 1ª columna: pHOR 2F5 HC = 4.956 parells de bases.

- 2^a columna: pHOR 2F5 LC= 4.224 parells de bases.
- 3^a columna: bar gene = 7.387 parells de bases.

Part dreta (MAXIprep digerida) – Separació del gen d'interès. (gen d'interès + la resta del plasmidi)

- 1^a columna(banda de baix): pHOR 2F5 HC = 1.467 parells de bases.
- 1^a columna(banda de dalt): pHOR -2F5 HC = 3.489 parells de bases.
- 2^a columna(banda de baix): pHOR 2F5 LC = 735 parells de bases.
- 2^a columna(banda de dalt): pHOR -2F5 LC = 3.489 parells de bases.
- 3^a columna(banda de baix): pTRaux bar gene = 504 parells de bases.
- 3^a columna(banda de dalt): pTRaux -bar gene = 6.883 parells de bases.

Amb la part digerida (esquerra) seria suficient per comprovar la quantitat d'ADN que tenim. La part dreta és per confirmar-ho amb més seguretat

2.- Digestió amb enzims de restricció. Aquests enzims de restricció tallen el principi i el final del gen d'interès.

A part de la qualitat, quantificarem el **número de còpies** (quantitat de DNA) pel qual **utilitzarem un espectròmetre**. Aquest aparell ens permetrà comparar la radiació absorbida o transmesa per una solució que conté una quantitat desconeguda de solut.

Mostra	ng/µl
pHOR- 2F5 HC (MAXI)	855,09
pHOR- 2F5 LC (MAXI)	740,98
pTraux-bar (MAXI)	1117,73

Quantitat en Ng/µl de DNA que necessitem pel bombardeig

- 2- Transformació de plantes a través de biobalística de plasmidis que contenen el gen (Bombardeig): En aquest procés, els **plasmidis** obtinguts **de la clonació que contenen el gen d'interès** (anticòs 2F5) s'adhereixen a petites partícules d'or i **són disparats als embrions del panís.**

Biobalística: Amb una mena de pistola es dispara, mitjançant una descàrrega elèctrica, partícules microscòpiques d'or recobertes amb un gen dissenyat per produir una proteïna que, al ser fabricada a l'interior de les cèl·lules de la planta bombardejada, fa que sobrevisquin a un compost, com per exemple un herbicida.

Extracció d'embrions immadurs de panís:

(14 dies després de pol·linitzar la panotxa)

- Medi N6 (de 4 a 6 dies)
- N6 Osmoticum* (de 3 a 4 hores)
- Disparar DNA
- Esperar (3-4 hores)
- Medi N6 (2 dies)
- Medi N6/ PPT (2 setmanes)
- Nou medi N6/PPT (2 setmanes)
- Medi R1 (per la producció de fulles) (2 setmanes a la foscor i la resta amb llum)
- Medi R2 (per la producció d'arrels) (2 setmanes a la foscor i la resta amb llum)
- Passar-ho amb un test amb terra
- Extracció de proteïnes
- Comprovar l'expressió

Preparació de l'or

S'utilitzen partícules d'or perquè és un material inert, no fa mal a les plantes.

Mitjançant un protocol es preparen les partícules d'or perquè s'adhereixin al DNA.

Els gens que recobreixen les partícules d'or es troben en plasmidis que contenen un **promotor més el gen d'interès** (anticòs 2F5) i un **terminador per acabar la proteïna**. En aquest cas el promotor és específic de la llavor, per que l'anticòs només s'expressi allà, a la llavor.

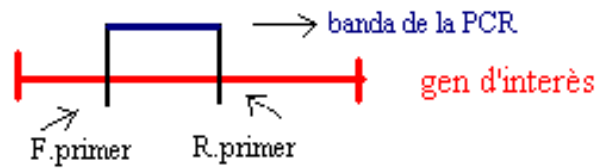
L'anticòs 2F5 és un dels 4 anticossos monoclonals efectiu contra el virus del sida. Aquest anticòs neutralitzant s'uneix al virus i el frena per tal d'evitar que infecti noves cèl·lules CD4 del sistema immunitari. Tot i que no n'implica la curació, si que n'impedeix la infecció de cèl·lules noves i retarda el desenvolupament de la malaltia de la sida.

- 3- Regeneració de plantes: A partir dels embrions bombardejats es regeneren plantes mitjançant tècniques de cultiu in vitro. Hi ha tres tipus de medi de cultiu* diferents: el primer seria per al desenvolupament de cal·lus. Al cap d'un cert temps es passaria a medi R1 que porta els nutrients adequats per al desenvolupament de les fulles. L'últim tipus de medi és el R2, necessari per la formació de les arrels. Al medi de cultiu se li afegeix el gen marcador de selecció o bar gene, que com hem dit abans és el PPT.

Els teixits que no continguin el "Bar gene" moriran perquè no seran resistents a l'herbicida i, els teixits que continguin el "Bar gene", sobreviuran al llarg de tot el cultiu in vitro. D'aquesta manera evitarem haver d'analitzar moltes plantes havent-n'hi algunes de negatives. Encara que sempre hi ha escapades i per això, es fan les PCRs.

PRC del Bar gene: aquesta PCR es fa de plantes petites per anar eliminant treball, és a dir, "falsos positius". Serveix per veure

que les plantes contenen el "Bar gene". Per fer-lo utilitzem uns encebadors específics.



Dissenyem els encebadors: sabem el tamany de la banda o el tamany del gen que s'amplifica, que en aquest cas és 457bp (encebador 1).

Posteriorment tornem a fer una **PCR per veure si hi són els gens de l'anticòs**, que seria el mateix però amb els encebadors específics per cada gen: 2F5 HC i 2F5 LC.

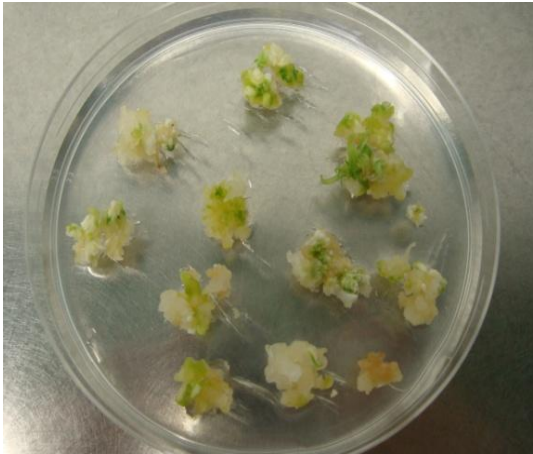


Embrions



Cal·lus

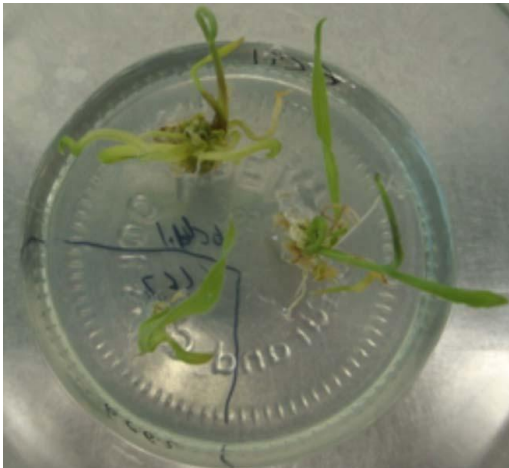
Les plantes i les arrels van creixent.



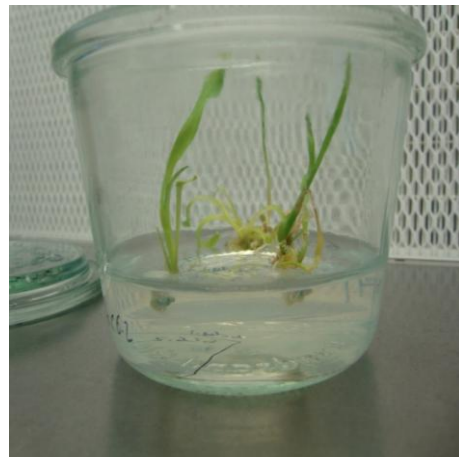
Comencen a sortir petites fulles.



Planta petita amb fulles.
Comencen a sortir arrels.



Planta mitjana vista des de dalt



Planta mitjana vista lateral

Així que van creixent s'han d'anar canviant de pots.



Planta gran vista des de dalt



Planta gran vista lateral

Quan són suficientment grans i les arrels es veuen fortes i gruixudes es passen a terra.



Arrels.



Plantes passades a terra.

Les plantes s'han d'anar canviant de pots a mesura que van creixent. Aquest trasllat s'ha de realitzar en una cambra o cabina de flux laminar. Aquesta cabina té un corrent d'aire laminar dins de la zona de treball; això dilueix i expulsa tots els contaminants de l'aire des de l'interior. Per això és important treballar-hi ben endins i que res impedeixi el pas de l'aire cap enfora tret de la mostra amb la que estem treballant. El material amb que es treballa ha d'estar esterilitzat i la cabina



abans de fer-la servir sempre s'ha de netejar amb etanol, per garantir una millor desinfecció. La cabina de flux laminar també disposa de llum UV per tal d'eliminar petits microbis en l'ambient. A l'hora de posar les plantes amb terra es fan servir uns tests d'un material semblant al cartró de manera que aquestes plantes quan es portin a la càmera, l'una al costat de l'altra, i siguin regades, es passaran humitat entre elles i això els proporcionarà un bon ambient. Sota la terra s'hi posa uns trossos de "porexpan" per a que les arrels s'agafin millor.

Un cop dins la càmera s'han de tancar perquè no estan acostumades a respirar tant oxigen. Es van destapar uns forats que hi ha a la tapa perquè es vagin acostumant poc a poc a l'ambient exterior i no s'estressin.

4- Analitzar les plantes per veure si tenen els gens d'interès, per veure si són transgèniques.

4.1- Anàlisi a nivell de DNA. Es fa a les noves plantes per veure si els gens d'interès que hem introduït en la transformació es troben dins del genoma de la planta o no s'hi troben perquè la transformació no ha funcionat. (Extracció de DNA i PCR) –Reacció en cadena de polimerasa.

- **Extracció de DNA de les plantes** (concretament les fulles) mitjançant un protocol i un kit de productes:

✓ Mostres:

- Suspensió de cèl·lules.
- Cèl·lules *E. coli* (0.5 a 1.0 ml d'un cultiu d'una nit, ~1 x 10⁸ cèl·lules/ml)
- Teixits mamífers (3.5 mg a 100 mg)
- Planta de fulles fresques (50mg)

✓ Preparació:

- Les mostres han d'estar precipitades i el medi decantat. Resuspendre el sediment cel·lular en 200µl 1X PBS. Amb això s'elimina la formació d'un sediment de sal quan precipiti l'ADN
- Congelació d'uns teixits i fulles de plantes en nitrogen líquid. Colpejar-ho amb un morter i una mà de morter. Col·locar les mostres en tubs de microcentrifugadora pel processament.

Nota: les fulles fresques picades donaran DNA però no tant ni de tanta alta qualitat com les fulles fresques que han estat congelades amb nitrogen líquid.

✓ Abans de començar:

- Fred al 100% i un 80% d'etanol a -20°C al congelador.
- Descongelar la ARNasa (emmagatzemada a -20°C) i guardar-la en gel.
- Equilibrar dos tubs d'aigua, un a 37°C i l'altre a 65°C
- Centrifugar a 4°C

✓ Aïllament del DNA:

1. Afegir 350 μl de Solució A per la suspensió de la cèl·lula, teixit o part de la plata i vortejar en intervals d'1 segon fins que estigui tot barrejat i dispers.
2. Incubar a 65°C durant 10 minuts.
3. Afegir 150 μl de Solució B i vortejar vigorosament fins que el precipitat es mogui amb llibertat dins del tub, i la mostra sigui uniformement viscosa (10 segons-1 minut)
4. Afegir 500 μl de cloroform i vortejar fins que la viscositat disminueixi i la barreja sigui homogènia. (10 segons-1 minut)
5. Centrifugar a màxima velocitat durant 10-20 minuts a 4°C per separar les fases. Transferir la fase superior amb un tub de microcentrífuga nou. Procedir a la precipitació del DNA.

✓ Precipitació del DNA:

1. A la solució de DNA, afegir 1ml de 100% etanol (-20°C) i vortejar brument.
2. Incubar el tub en gel durant 30 minuts.
3. Centrifugar a la màxima velocitat durant 20 minuts a 4°C. Eliminar l'etanol del sediment amb una pipeta Pasteur dilatada.
4. Afegir 500 µl d'etanol al 80% (-20°C) i barrejar invertint el tub de 3 a 5 vegades
5. Centrifugar a màxima velocitat de 3 a 5 minuts a 4°C. Guardar el residu o precipitat i remoure l'etanol al 80% amb una pipeta Pasteur dilatada.
6. Centrifugar a màxima velocitat de 2 a 3 minuts a 4°C. Remoure l'etanol residual amb una pipeta. Deixar assecar a l'aire durant 5 minuts.
7. Re suspendre el precipitat en 100 µl de TE Buffer. Afegir 2 µl de 2mg/ml de ARNasa per portar la concentració a 40 µg/ml.
8. Incubar a 37°C durant 30 minuts. El DNA és preparat per altres experiments. Guardar-lo a 4°C.

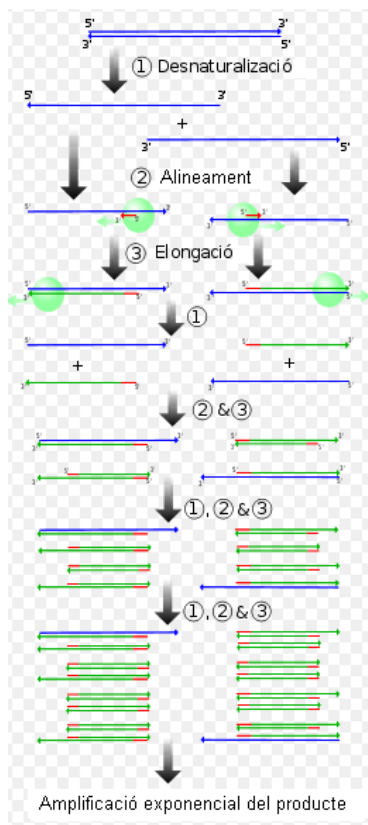


Extracció de DNA

- **PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**: La reacció en cadena de polimerasa és una forma alternativa de la clonació de seqüències per aïllar una seqüència de DNA. En aquest cas per detectar el bar gene, el gen d'interès. Aquesta tècnica va ser inventada per Kary Mullis l'any 1985 amb l'objectiu d'obtenir moltes còpies d'un fragment de DNA determinat.

ETAPES	TEMPERATURA	TEMPS
Desnaturalització inicial	94 °C	3 minuts
1. <u>Desnaturalització</u>	94 °C	45 segons
2. <u>Alineament</u>	60 °C *	45 segons
3. <u>Elongament</u>	70 °C	3 minuts
Elongació final	72 °C	10 minuts

*Aquesta temperatura canvia depenent de l'encebador. Les tres primeres etapes principals (desnaturalització, alineament i elongament) consten de 35 cicles.



5 X Buffer	10 µl
10 MdNTPS	1 µl
For. Primer (20 µM)	2,15 µl
R. primer (20 µM)	2,15 µl
Taq (enzim)	0,25 µl
dH ₂ O	28,75 µl
DNA	5 µl (250ng)
Volum final	50 µl x tub o reacció

Components necessaris per la PCR

Preparació PCR

A continuació tenim les mostres de les plantes amb els ng i l'H₂O corresponents que necessitem per a la PCR.

MOSTRES	STOCK (ng/µl)	Necessitem 250 ng	dH ₂ O
1. 4C	1337,25 µl	2 µl	31,75 µl
2. WT	430,69 µl	6 µl	27,75 µl
3. 6C6.1.2 soil	82,17 µl	3,04 µl	30,71 µl
4. 5C4.1 pots roots *	734,25 µl	0,3 µl	30,75 µl
5. 5C1.1 no roots*	72 µl	3,5 µl	30,25 µl
6. 6C4.1 roots	75,4 µl	3,3 µl	30,25 µl

			µl
7. 5C4.1 roots	156,15 µl	1,6 µl	32,15 µl
8. 6C6.1 no roots	170 µl	1,5 µl	32,15 µl
9. 6C6.1 pots	84,52 µl	3 µl	30,75 µl
10.5C4.1 no roots	43 µl	5,8 µl	28 µl
11.6C2.4 soil	142,6 µl	1,8 µl	32 µl
12.6C2.4 no roots	1082,61 µl	0,2 µl	31,75 µl
13.5C3.3 soil *	66,2 µl	3,8 µl	29,95 µl
14.5C4.2 no roots	103,41 µl	2,4 µl	31,35 µl
15.+Bar gene	1668 µl	0,1 µl	32,75 µl
16.dH ₂ O			33,75 µl
17.5C3.3 soil	66,2 µl	3,8 µl	29,95 µl

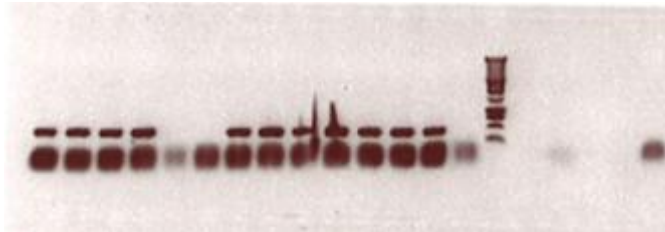
*No contenen el gen d'interès.



Preparant la PCR.

2011-07-12 16hr 26min pcr 60 v2 (Raw 1-D Image)

(+)1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 H₂O WT



La primera mostra és el control positiu, només el plasmidi del gen d'interès (el que vam bombardejar). L'aigua i el Wild Type (planta de panís sense transformar) són els 2 controls negatius.

Com podem observar, el control positiu té una banda a damunt, això ens indicarà que totes les mostres que tenen aquesta banda tindran el gen d'interès. Els dos controls negatius no tenen aquesta banda, per tant, les mostres que no la tenen no tindran el gen d'interès.

En aquests cas la PCR ens mostra que la doble hèlix dels primers 1 tenen uns 500 parells de bases.

4.2- Anàlisi a nivell de proteïna. Aquest anàlisi serveix per comprovar **si l'anticòs s'expressa o no**. Es realitza a les plantes de fa uns 6 mesos que ja tenen llavors i la PCR va demostrar que tenien els gens de l'anticòs 2F5.

La tècnica que utilitzem al laboratori és la ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbernt Assay), una tècnica d'immunoassaig però n'hi ha d'altres com per exemple Western Blot o Dot Blot.

Com que l'anticòs només hi és o s'expressa a les llavors, hem de treballar amb les llavors i no amb les fulles. Separarem l'embrió de l'endosperma i el posem a germinar per obtenir la segona generació de la planta. Per altra banda, a l'endosperma li extraïem la proteïna i analitzem l'expressió de l'anticòs 2F5 mitjançant la tècnica ELISA. El següent pas seria analitzar la planta de la segona generació per veure si el nivell d'expressió és major que el de la primera, que normalment sol passar.

1) Primer extraiem les proteïnes de les llavors mitjançant un protocol.

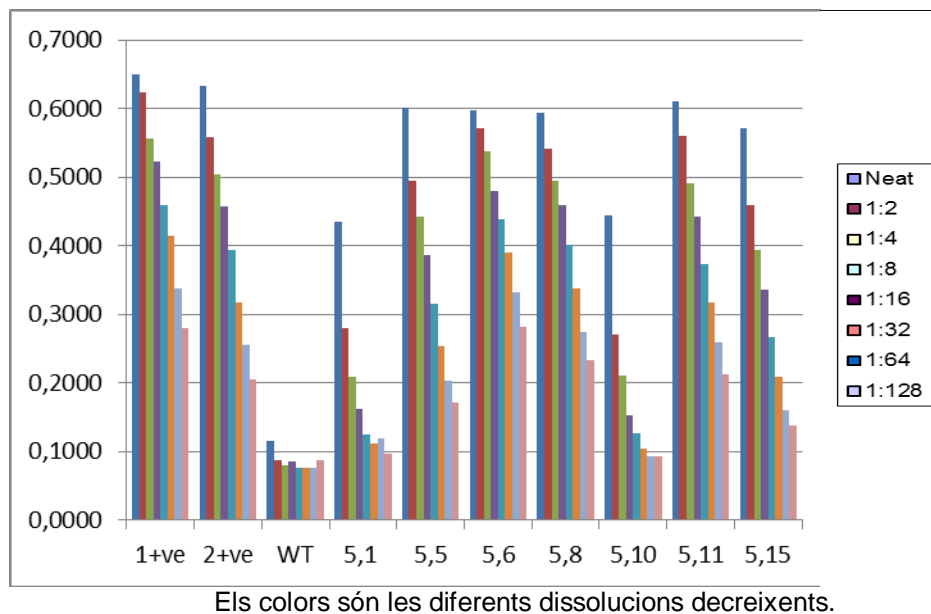
Extracció total de proteïna soluble a partir del teixit de l'endosperma de la llavor de panís.

- Xopar les llavors en aigua autoclavada* a temperatura ambient durant 2 o 3 dies depenent de com va absorbint l'aigua. Un cop les llavors estan prou embegudes, s'elimina l'embrió.
- Transferir l'endosperma restant del teixit en un eppendorf* i pesar el teixit.
- Afegir dos vegades el volum de l'extracció amb buffer (equivalent al doble del pes del teixit), afegir 200ul de buffer d'extracció per 100mg de teixit. (buffer d'extracció = 1X PBS).
- Moldre el teixit usant una mà de morter de plàstic.
- Centrifugar-ho a 12.000rpm durant 15 minuts, a 4°C.
- Transferir el sobrenedant amb un nou tub de microcentrífuga .
- Re-spin a 12.000rpm durant 15 minuts.
- Remoure el sobrenedant amb un nou tub (no transferir tot el sobrenedant- deixa un petit volum damunt de l'eppendorf per eliminar algunes sals contaminants).
- Re-spin si la mostra encara continua sent tèrbola en la solució
- Emmagatzemar totes les mostres a 4°C.

2) ELISA

La ELISA és una tècnica que ens diu si s'expressa o no una proteïna, en aquest cas, la de l'anticòs treballat i ens en permet estimar la quantitat. Els plats d'ELISA consten de 12x8 forats, un total de 96 en els quals a la base hi ha una proteïna que s'enganxarà a l'anticòs.

Planta número 5



En aquesta mostra d'ELISA tenim dos controls positius que són els 1+ve i 2+ve (anticòs 2F5 produït CHO) i un de negatiu anomenat Wild Type (llavor d'una planta sense transformar), que ens permetran saber si les llavors que hem analitzat s'expressen més o menys.

A l'eix de les X, a part dels controls positius i negatius tenim mostres de la planta número 5. Per fer aquest experiment s'agafen llavors a l'atzar perquè no totes les llavors expressen l'anticòs. El número que hi ha a continuació del 5 fa referència al número de la llavor.

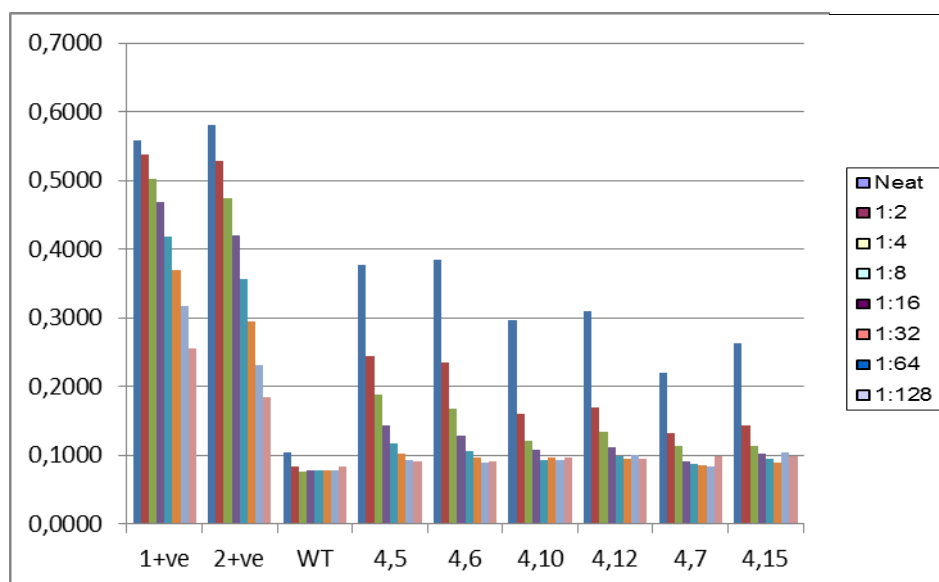
A l'eix de les Y tenim l'absorbància mesurada a 450nm ja que el color groguenc que s'observa a les plaques d'ELISA es tradueix a números mesurant l'absorbància a 250nm (longitud d'ona).

Si comparem les barres de les llavors amb el control positiu, concloem que les llavors de la planta número 5 expressen l'anticòs 2F5 i que a més aquest anticòs és funcional ja que s'uneix a la glicoproteïna gp41, que forma part de l'embolcall del virus.

La llavor número 10 (5.10) és la que menys expressió té, hi ha bastant diferència entre les altres. Sabem que la tècnica ELISA ens ha sortit bé perquè si comparem les mostres i el control positiu amb el WT

(control negatiu), hi ha una gran diferència. El WT no expressa res. Pel que diem que les llavors amb major expressió són les 5.5, 5.6, 5.8, 5.11, 5.15 i els seus embrions.

Planta número 4



Aquest gràfic és el de la planta número 4, amb les seves corresponents llavors. (4.5, 4.6, 4.10, 4.12, 4.7 i 4.15). Seria el cas d'una planta amb molt poca expressió de l'anticòs 2F5, comparant-ho amb el control positiu i el WT per tant, la descartem perquè no en trauríem gaire profit.

2.2 Anàlisi de resultats i conclusions

He après que el procés de transgènesi i els projectes que utilitzen mètodes de transgènesi són molt complicats i tenen molts passos per arribar a obtenir el que es pretén.

És molt fàcil que et falli un procés perquè és molt delicat i depèn de molts factors. No solament humans sinó també tècnics.

Són processos en els quals és molt fàcil que hi hagi una contaminació involuntària per agents que no tenen res a veure amb l'experiment.

En el procés realitzat s'ha fet un seguit de protocols amb una finalitat concreta. De manera desglossada es pot dir que:

El clonning és **el primer** procediment a seguir. En aquesta part es preparen els plasmidis per ser introduïts a les plantes. En aquests plasmidis s'han introduït els gens que ens interessin. Són gens que codifiquen un anticòs que actua contra el virus de la sida.

Si no hi ha un marcador (en el nostre cas un gen resistent a un herbicida) no podem estar segurs si hem aconseguit introduir en el plasmidi el gen que ens interessa. És a dir, és necessari un gen marcador.

Dins d'aquest apartat, un altre procediment que es fa és la MAXIprep (maxi preparació) que serveix per fer moltes còpies del plasmidi que conté el gen que codifica l'anticòs que volem (2F5) i que són els que necessitem per fer el bombardeig als embrions per introduir-los-hi el gen. Un cop feta, es comprova que la quantitat de DNA i que la qualitat dels plasmidis sigui bona abans de la introducció. Això es fa amb el gel d'agarosa i amb la digestió d'enzims de restricció.

Amb el gel d'Agarosa mirem la qualitat de les còpies de plasmidi que hem fet a la MAXI. Considerem que amb el gel d'Agarosa ens ha sortit bé perquè amb l'escala d'1kb hem comprovat que el número de parells de bases ens doni igual o d'un valor aproximat al plasmidi del que hem volgut fer les còpies. Per tant, com més iguals és el número dels parells de bases, de més bona qualitat és el plasmidi.

Amb la digestió d'enzims de restricció hem determinat la quantitat que hem aconseguit de DNA.

El segon procediment es tracta de la transformació de plantes a través de la biobalística. Els plasmidis preparats obtinguts del clonning que contenen el gen d'interès són disparats a les plantes.

Un cop les plantes han estat transformades s'han de regenerar. Aquest seria el **3r pas a seguir** i consistiria en anar fent créixer les plantes mitjançant els diferents medis de cultiu fins que les plantes siguin passades a terra.

Quan les plantes són petites es podria fer una PCR per comprovar si hi ha el gen d'interès o no i d'aquesta manera, eliminar per a una PCR posterior, falsos positius. Posteriorment es torna a fer una PCR per comprovar si hi ha els gens de l'anticòs.

Quan les plantes han crescut s'han d'analitzar. Aquest anàlisi es realitza en el **quart pas**. És fan dos tipus d'anàlisi:

El primer és a nivell d' DNA (PCR) hem comprovat que totes mostres de plantes que tenim, tenen el plasmidi amb el gen que hem introduït al principi, però veiem que en algunes de les mostres com la 4,5, i 13 no tenen cap ratlleta a dalt de la foto de la PCR, cosa que ens indica que no contenen el gen d'interès. Per tant, no hem aconseguit que totes les plantes tinguin el plasmidi amb el gen.

El segon és un anàlisi a nivell de proteïna amb la tècnica ELISA. Comprovem l'expressió de la proteïna. En aquesta tècnica es van fent dissolucions a partir de la primera filera de forats (de la primera fins a la vuitena). En la planta número 5 podem observar que la Elisa ens ha sortit bé perquè en la gràfica podem veure aquestes dissolucions. El que ens ho indica és que les barres dels diferents colors van decreixent i en el WT que és el control negatiu les barres són iguals, no decreixen. En la planta

número 4 podem veure que les llavors d'aquesta planta no expressen gaire la proteïna perquè en les barres de les diferents llavors no s'observa quasi aquest important decreixement. Hem de comprovar les diferents llavors amb els controls positius (1+ve, 2+ve) i en aquest cas s'assemblen més al control negatiu (WT). Per tant, encara que la planta 4 conté el gen no s'expressa la proteïna (l'anticòs).

Veient tots aquests seguiments i les corresponents comprovacions mitjançant les PCRs i la tècnica ELISA, entre d'altres, podem concloure que el nou gen s'ha introduït correctament a les plantes.

3. ESTUDI DE LA VALORACIÓ SOCIAL DELS PRODUCTES OBTINGUTS A TRAVÉS DE MODIFICACIONS GENÈTIQUES

Per tal de saber una mica l'opinió i coneixement general que té la gent sobre els transgènics he realitzat un model d'enquesta que podreu veure a l'annex. En aquesta enquesta he plantejat una sèrie de preguntes relacionades amb els transgènics i posteriorment n'he analitzat els resultats.

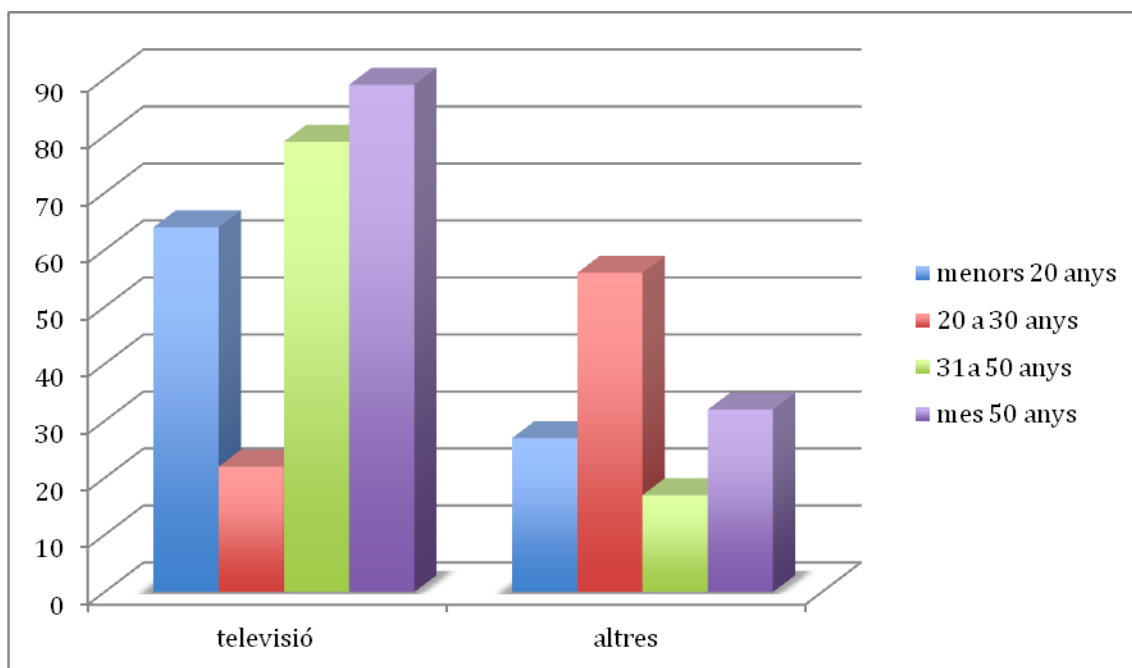
3.1 Buidat de les enquestes

3.1.1 Dades sobre el coneixement dels transgènics

3.1.1.1 Font d'informació

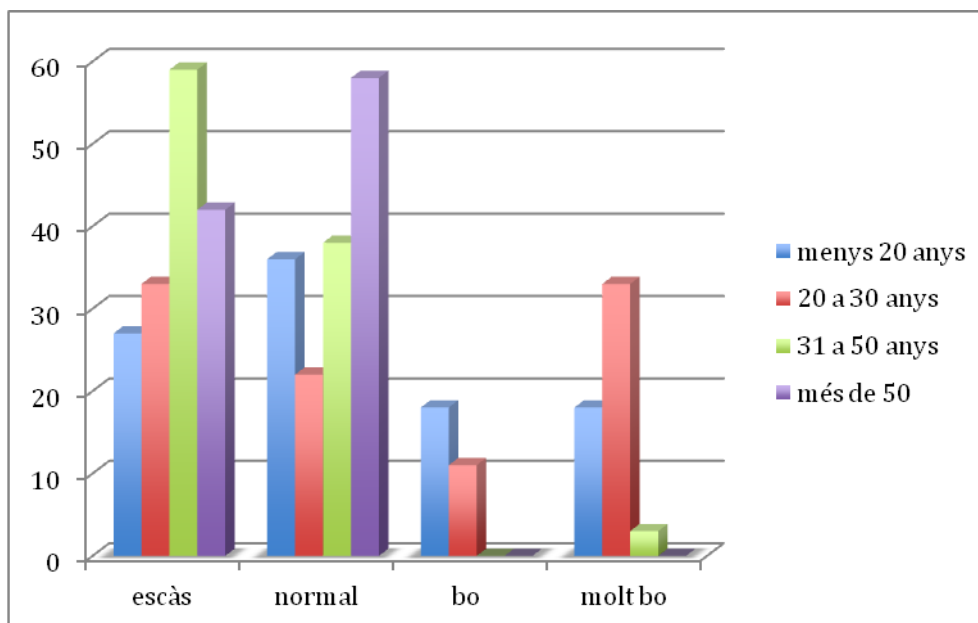
Pel que fa al coneixement dels transgènics, un 99% de la gent a qui he passat les enquestes han sentit a parlar dels productes transgènics i majoritàriament ho han fet per la televisió. Si ens fixem en els grups

d'edat, els de 20 a 30 anys en tenen coneixements per d'altres vies, suposadament pels estudis.



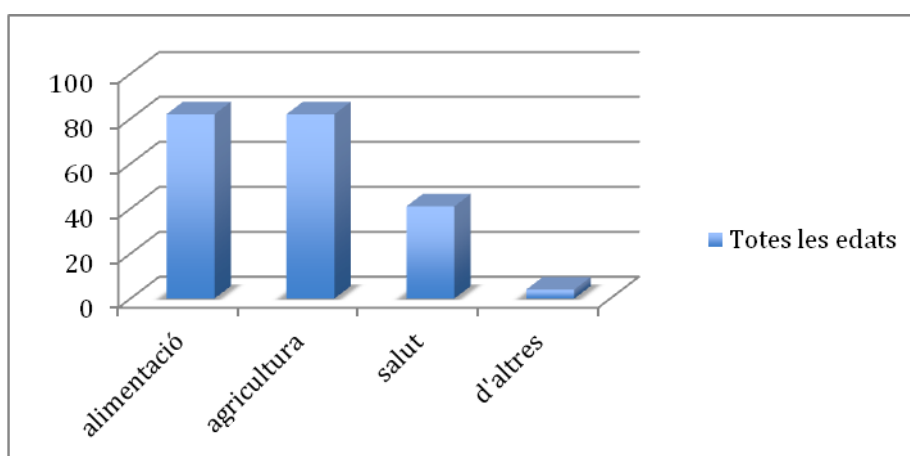
3.1.1.2 Nivell d'informació

Quant al nivell d'informació que creuen tenir, en general el consideren entre escàs i normal. El grup d'edat menor de 20 anys consideren que en tenen una informació adequada, mentre que en el grup que va dels 20 als 30 anys hi ha un empat entre els que consideren que el seu nivell és molt bo i els que creuen que és escàs. Els de 31 a 50 consideren que és escàs i els de més de 50 consideren que el seu nivell és l'adequat.



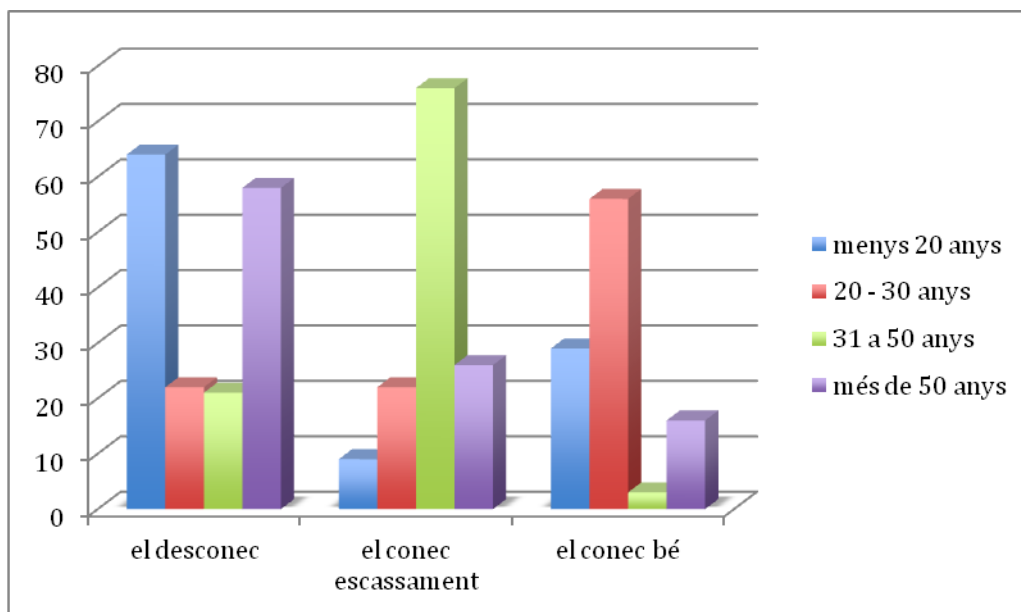
3.1.1.3 Àmbit d'aplicació

Pel que fa a l'àmbit d'aplicació dels transgènics, en general el situen a l'alimentació i a l'agricultura.



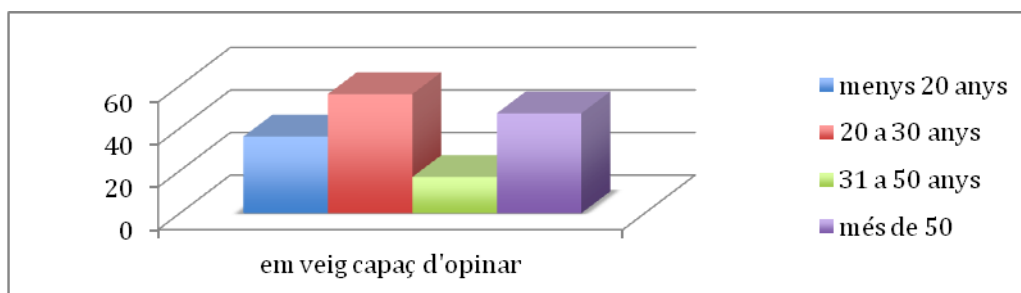
3.1.1.4 Coneixement del procés d'obtenció

En general les persones enquestades consideren que tenen un nivell escàs del coneixement del procés a seguir per l'obtenció dels transgènics. Per grups d'edats, els de menys de 20 anys manifesten tenir un desconeixement del procés d'obtenció dels transgènics a l'igual que els majors de 50 anys, els de 31 a 50 manifesten que en tenen un coneixement escàs i és en el grup de 20 a 30 anys amb un 56% el que afirma que el coneix bé.



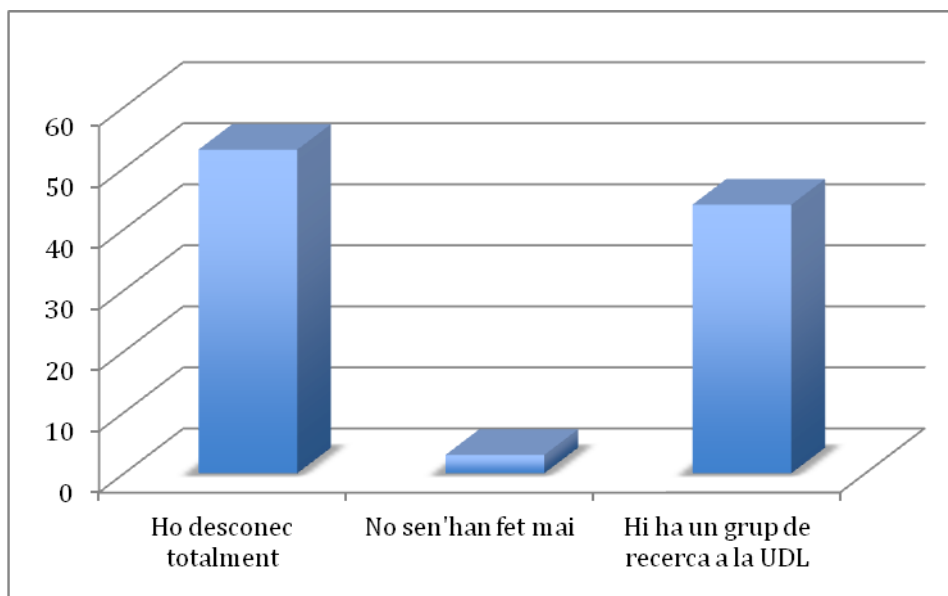
3.1.1.5 Considerar-se capaç d'opinar si són o no perjudicials

Solament els pertanyents al grup d'edat de 20 a 30 anys amb el 56%, coneixedors del procés d'obtenció dels transgènics, es consideren capaços d'opinar si són o no perjudicials.



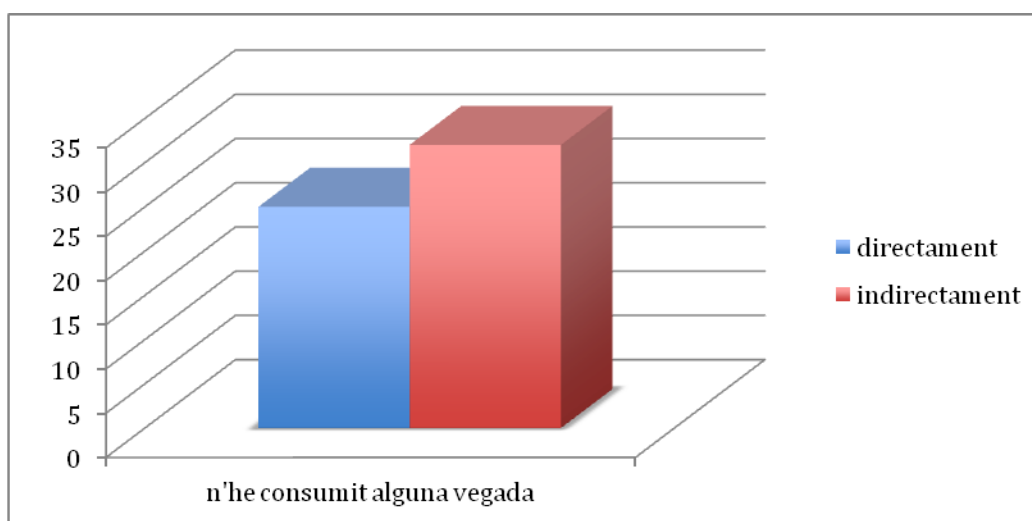
3.1.1.6 Coneixement de les investigacions que es duen a terme a Lleida

Pel que fa al coneixement de les investigacions que en aquest camp es realitzen a Lleida, la majoria dels enquestats ho desconeixen en un 36%, encara que hi ha un grup important que sí que n'és sabedor .



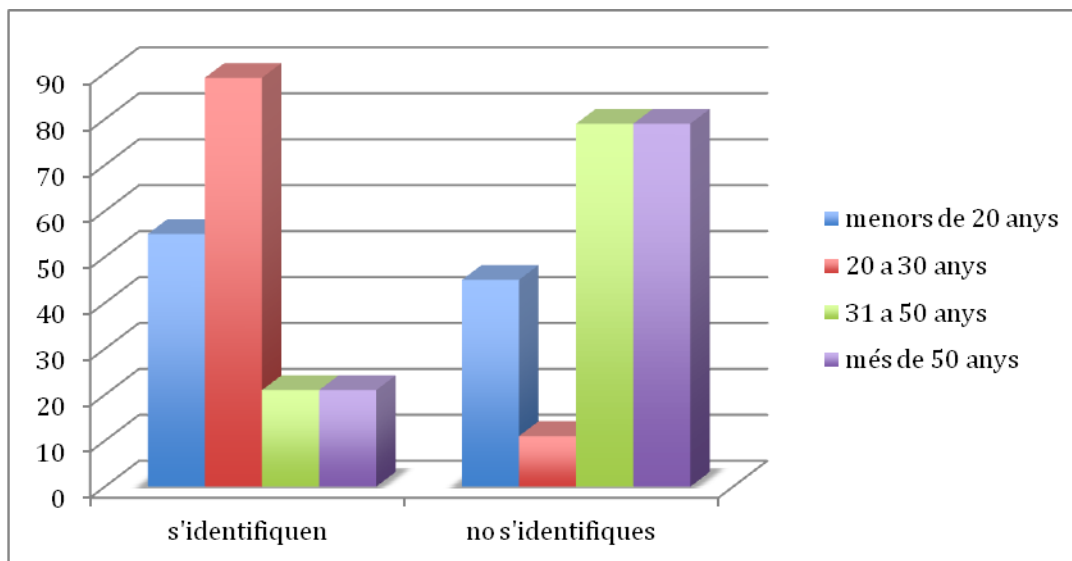
3.1.1.7 Coneixement del consum de transgènics

En general el 57% dels enquestats creuen que n'han consumit alguna vegada, tot i que, majoritàriament, de manera indirecta.



3.1.1.8 Coneixement de la identificació dels productes que contenen transgènics

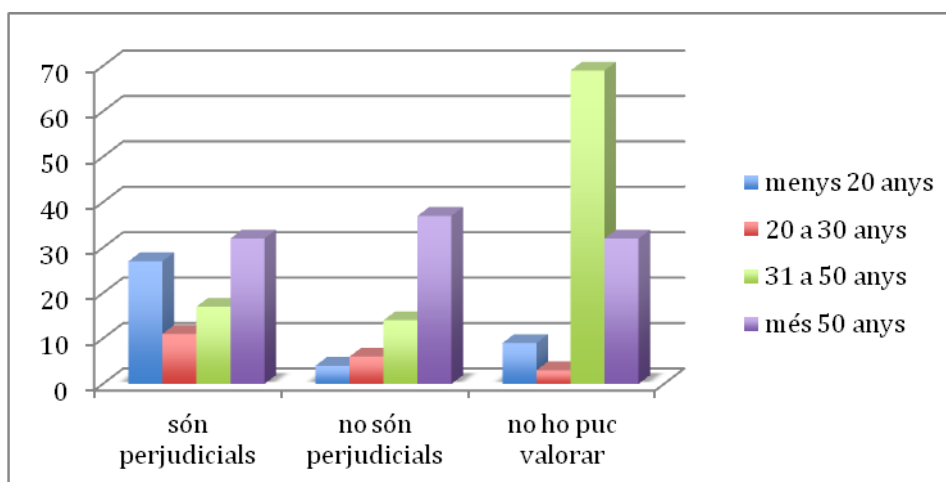
La majoria dels enquestats en un 65 % desconeixen que els productes que contenen transgènics s'han d'identificar d'alguna manera. Si en fem l'anàlisi per grups d'edats ens n'adonarem que la població més jove considera que sí que s'identifiquen mentre que la més gran no.



3.1.2 Dades sobre el que es pensa dels transgènics

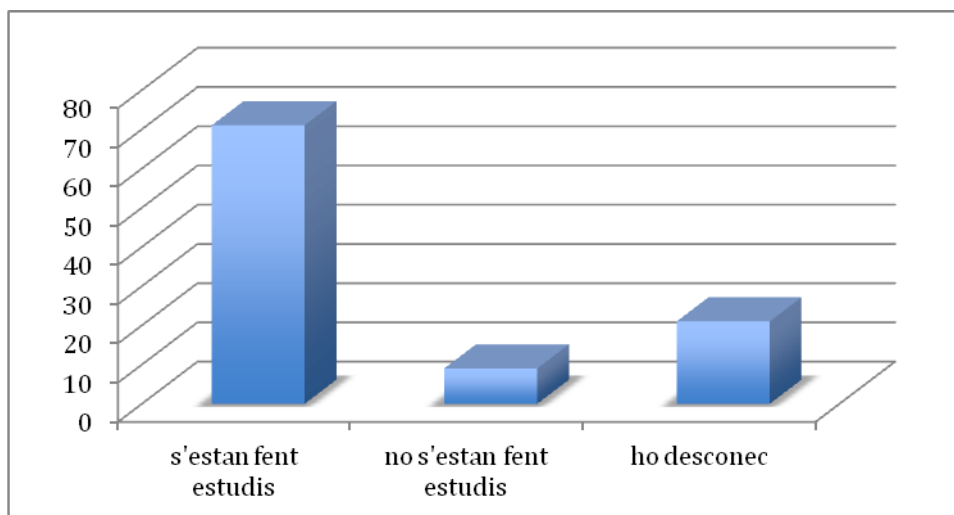
3.1.2.1 Ingerir transgènics o derivats pot ser perjudicial

Per poca diferència, la majoria dels enquestats consideren que els transgènics no són perjudicials a excepció del grup d'edat de 31 a 50 anys que creuen que no ho poden valorar.



3.1.2.2 Creença sobre si s'estan duent a terme estudis per saber si els productes transgènics són perjudicials

La majoria dels enquestats coincideixen en creure que s'estan fent estudis per saber si són perjudicials o no.



3.1.2.3. Creença sobre l'autorització o no del cultiu de transgènics pels governs

El 63% dels enquestats manifesten que els governs haurien de permetre els cultius de plantes transgèniques amb finalitats humanitàries. Per grups d'edats els enquestats entre els 20 i 30 anys puntualitzen que se n'hauria de permetre el seu cultiu sempre ja que mai se n'ha demostrat cap efecte negatiu.

3.1.2.4 Creença que el procés natural de la bactèria *agrobacterium tumefaciens* pot considerar-se una transformació genètica

El 34% dels enquestats creuen que aquest procés natural es pot considerar una modificació genètica. Per grups d'edats, a partir dels 31 anys hi estan parcialment d'acord.

3.2 Conclusions

- En general la informació sobre els transgènics arriba a la gent a través de la televisió.
- En general es considera que el nivell d'informació que es té és normal , adequat.
- Es situen els àmbits d'aplicació a l'agricultura i l'alimentació.
- Es coneix escassament el procés d'obtenció de transgènics.
- La gent no es considera capaç d'opinar si són perjudicials o no.
- Es desconeix que a la nostra ciutat s'està investigant amb transgènics, tot i que hi ha un grup important d'enquestats que sí que en són sabedors.
- La gent creu haver consumit productes transgènics de manera indirecta.
- No es coneix, en general, que els productes que contenen algun component transgènic cal que consti en el seu etiquetatge.
- La gent no es considera capaç d'opinar sobre els transgènics, així doncs no poden fer-ne una valoració de si són o no perjudicials.
- En general es creu que s'estan fent estudis per saber si són o no perjudicials.
- Es creu que els governs haurien de permetre els cultius de transgènics amb finalitats humanitàries.

BIBLIOGRAFIA

Llibres

- **CHRISTOU, Paul; CAPELL, Teresa i altres** *Canviar els gens per millorar el món. La ciència al servei de la humanitat.* Pagés editors. Lleida 2011
- **GARCÍA OLMEDO, Francisco** *La tercera revolució verde* Editorial temas de debate. Madrid 1998
- **JIMENO, Antonio i BALLESTEROS, M.** *Biologia 2 Batxillerat* Ed. Grup promotor Santillana. Barcelona 2009
- **JIMENO, Antonio i UGEDO, Luís** *Biologia 1 Batxillerat* Ed. Grup promotor Santillana. Barcelona 2008

Revistes

- **RAMESSAR, Koreen; CAPELL, Teresa i CHRISTOU Paul** *Molecular pharming in cereal crops.* *PhytochemRev* (2008) 7:579-592

Pàgines web

- <http://blogs.creamoselfuturo.com/bio-tecnologia/>
- <http://ca.wikipedia.org/wiki/Biotecnologia>
- http://cls.casa.colostate.edu/cultivostransgenicos/sp_animation.html
- <http://www.edualter.org/material/transgenicos/transg.htm>
- <http://www.monsanto.es/>
- <http://www.porquebiotecnologia.com.ar/index.php>
- <http://www.tecnociencia.es/especiales/transgenicos/4.htm>
- http://www.aidsinfont.org/fact_sheets/view/157?lang=spa#_ACT_AN_LOS_MICROBICIDAS
- <http://www.xtec.cat/~ivilater/enlinia/transgenics/video%201.htm>

GLOSSARI

Aigua autoclavada: Aigua passada per l'autoclau, un recipient metàl·lic de parets gruixudes amb una tanca hermètica per treballar a alta pressió. S'utilitza per esterilitzar.

Anticòs: Substància defensora (proteïna) sintetitzada pel sistema immunològic com a resposta a la presència d'una proteïna estranya (antigen) que l'anticòs neutralitza.

Biotecnologia: conjunt de disciplines o ciències que té per objectiu l'estudi dels éssers vius o parts dels éssers vius per tal d'obtenir-ne béns i serveis.

Buffer : (solució reguladora). És la mescla en concentracions relativament elevades d'un àcid dèbil i la seva base conjugada. Tenen la propietat de mantindre el pH estable en una dissolució.

Cal·lus: Petits embrions.

Enginyeria genètica: Tècnica que permet la modificació de l'herència biològica per la manipulació del material genètic de base.

Eppendorf: tub de microcentrífuga.

Gen: fragment d'àcid nucleic que duu informació per un caràcter .

Gens Bt: El BT és un bacteri present naturalment en els sols que produeix una proteïna tòxica per algun tipus d'insectes. El gen que es troba dins el bacteri i que produeix aquesta toxina és el gen BT, que pot es pot transferir a cultius fent-los més resistents a un insecte corresponent.

Gens CRY: En la majoria de les soques de BT, els gens cry es troben en el plasmidi. Les toxines cry tenen activitats específiques en contra d'espècies d'insectes.

Medi de cultiu: Gel fet a partir de ferro, concentració de sals, *soucrose*, *gelrite*, vitamines i nitrat de plata. Aquest gel permet el creixement de virus, microorganismes, cèl·lules i inclús petites plantes.

Medi LB: És un medi de cultiu més antibiòtic, utilitzat per excel·lència pel manteniment de les soques de E.coli recombinant en processos de microbiologia molecular.

Modificació genètica: procés a través del qual un organisme és sotmès a enginyeria genètica.

Nucleobond®: Se'ls anomena així a uns filtres especials que s'utilitzen a la MAXIprep.

N6 Osmoticum: És un tipus de medi de cultiu.

Organisme modificat genèticament (OMG): organisme en que el seu material genètic ha estat manipulat en un laboratori voluntàriament amb la finalitat d'assignar-li alguna característica específica.

Plasmidi: fragment d'ADN circular i extracromosòmic que sol contenir informació no vital per al bacteri, amb un tampany de l'1 al 3% del cromosoma bacterià.

Protoplast: cèl·lula vegetal sense la paret cel·lular.

RNA antisentit: Donat a que els ribosomes no poden traduir l'ADN de doble cadena, la traducció d'alguns ARN missatger pot ser inhibida per segments complementaris en la seqüència, denominats ARN antisentit.

L'expressió d'aquest tipus d'ARN és un teixit específic de gran interès biomèdic i biotecnològic.

RNasa A: (Ribonucleasa A). És una ribonucleasa que trenca una sola cadena d'ARN.

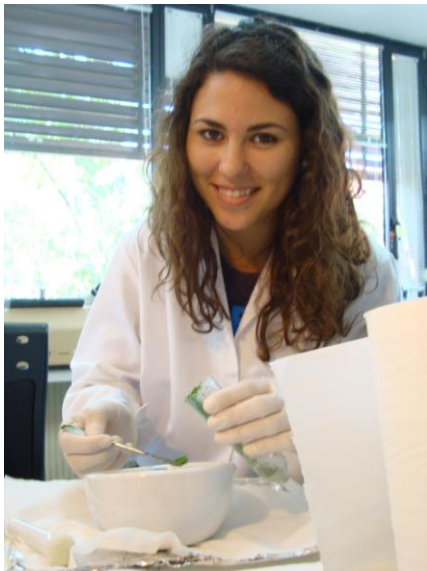
Vortex: Aparell de laboratori per fer les mostres homogènies.

ANNEX

Emmagatzematge de les plantes



Al laboratori



1.- Dades de la persona que respon l'enquesta :

1.1. Edat : Menys de 20: De 20 a 30: De 31 a 50: Més de 50:

1.2. Sexe: Home: Dona:

2.- Dades sobre el teu coneixement dels organismes modificats genèticament o transgènics

2.1. Has sentit a parlar de productes obtinguts a través de modificacions genètiques? SI NO

Per quina via?

Pares: Amics: Ràdio: Televisió: Premsa:

Altres:

2.2. Quin nivell d'Informació sobre els organismes modificats genèticament o transgènics creus que tens?

Escàs: Normal: Bo: Molt Bo:

2.3. En quins àmbits d'aplicació situaries els productes transgènics?

Alimentació: Agricultura: Salut: d'altres:

2.4. Coneixes el procés que es segueix per a obtenir transgènic?

El desconec: El conec escassament: El conec bé:

2.5. Amb els coneixements que tu tens et veus capaç d'opinar si són perjudicials o no ?

SI NO

2.6. Saps si a la teva ciutat s'estan realitzant investigacions amb organismes modificats genèticament?

Ho desconec totalment No se n'ha fet mai Hi ha un grup de recerca a la UDL

2.7 Saps si algun cop has consumit aliments transgènics? SI NO

Si és que sí, directament o indirectament? Directament Indirectament

2.8 Saps si els productes transgènics s'identifiquen d'alguna manera? SI NO

3.- Dades sobre el que tu penses dels transgènics :

3.1. Creus que ingerir o utilitzar productes elaborats amb transgènics pot ser perjudicial?

SI NO No tinc els coneixements per valorar-ho

3.2. Creus que s'han fet o es fan estudis per saber si són perjudicials o no per la nostra salut?

SI NO Ho desconec totalment

3.3. Un grup d'investigadors de biotecnologia vegetal aplicada de la UDL, d'entre d'altres projectes, realitzen estudis sobre la modificació genètica d'una varietat de panís que permet produir un anticòs específic molt eficaç per combatre el virus del SIDA. Creus que amb finalitats humanitàries els governs haurien de permetre els cultius de transgènics?

Mai, en cap cas Amb finalitats humanitàries si
Sempre, no s'ha demostrat que tinguin cap efecte negatiu

3.4. Existeix una bactèria en el sòl anomenada *agrobacterium tumefaciens* que de forma natural (sense la intervenció de l'home) transforma arbres i plantes a l'infectar-les. Creus que aquest procés natural pot considerar-se una modificació genètica?

Totalment d'acord Parcialment d'acord
Totalment en desacord Parcialment en desacord